

可溶性果胶(WSP)含量试剂盒说明书

微量法 100 管/48 样

正式测定前务必取 2-3 个预期差异较大的样本做预测定

测定意义：

果胶是构成细胞初生壁和中胶层的主要成分，主要由原果胶、果胶酸甲酯和果胶酸组成。果胶中含有半乳糖醛酸、乳糖、阿拉伯糖、葡萄糖醛酸等，是许多高等植物细胞壁中含量最丰富的多糖成分，其独特的物理、化学性质影响着植物源食品的口感和品质。果胶间以 Ca^{2+} 桥及其他离子键、氢键、糖苷键、酯键和苯环偶联的方式交联，通过不同的抽提方法可以提取各种形式的果胶，如水溶性果胶（WSP）、离子结合型果胶（ISP）和共价结合果胶（CSP）。

测定原理：

利用酸溶液提取得到（WSP）可溶性果胶，采用咔唑比色法测定果胶含量。果胶水解成半乳糖醛酸，在硫酸溶液中与咔唑试剂进行缩合反应，生成物质在 530 nm 处有最大吸收峰。

试剂的组成和配制：

产品名称	PCS002-100T/48S	Storage
试剂一：液体	100ml	4°C
试剂二：液体	100ml	4°C
试剂三：标准液	1ml	4°C
试剂四：液体	5ml	4°C
说明书	一份	

试剂二：粉剂×1 支，-20 °C 保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4°C 保存一周；

试剂三：粉剂×1 支，-20°C 保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4°C 保存一周；

试剂四：粉剂×1 支，4 °C 保存，用时加入 4ml 蒸馏水，混匀；用不完的试剂 4°C 保存一周；

需自备仪器和用品：

可见分光光度计/酶标仪、水浴锅、可调式移液器、微量石英玻璃比色皿/96 孔板、80%乙醇、丙酮、浓硫酸（不允许快递）、研钵和蒸馏水。

样品的前处理：

1、细胞壁的提取：取约 0.3g 样本，加入 1ml 80%乙醇，室温快速匀浆，95°C 水浴 20min，冷却至室温，4000g 25°C 离心 10min，弃上清。沉淀加入 1.5ml 80%乙醇和丙酮各洗一遍（涡旋振荡 2min 左右，4000g

最终解释权所有 © 伊势久（江苏连云港）生物科技有限责任公司，保留一切权利



伊势久(江苏连云港)生物科技有限责任公司

江苏省连云港市海州区花果山大道 17 号



服务热线：0518-81263339

官网：<http://www.bio149.com>

25°C离心 10min, 弃上清即可), 沉淀即为粗细胞壁, 加入 1ml 试剂一 (去除淀粉) 浸泡 15 小时, 4000g 25°C离心 10min, 弃上清, 将沉淀干燥, 称重得细胞壁物质 (CWM)。

2、WSP 的提取: 称取烘干的 CWM 3mg, 加入 1ml 试剂二, 充分匀浆(若烘干物质质地坚硬, 可先研碎后再加入 1ml 试剂二匀浆, 或者用匀浆器匀浆)。8000g 4°C离心 10min, 取上清液待测。

测定步骤:

1、分光光度计或酶标仪预热 30min 以上, 调节波长至 530nm 处, 蒸馏水调零; 试剂三和试剂四 37°C 预热 10min 以上。

2、操作表:

试剂名称 (μl)	空白管	标准管	对照管	测定管
待测样本			50	50
试剂三		50		
蒸馏水	50		50	
试剂四	50	50		50
混匀				
浓硫酸	400	400	400	400

混匀, 95°C水浴 5min 后, 冷却至室温, 取 200μl 至微量石英比色皿或 96 孔板中, 530nm 处读取吸光值, 空白管、标准管、对照管和测定管吸光值分别记为 A1、A2、A3 和 A4。若 A 大于 2, 需将待测样本用蒸馏水稀释 (可稀释 10 倍或 20 倍)。空白管和标准管只要做一管, 每个测定管需设一个对照管。

注意事项

最低检测限为 50μg /g 干重

WSP 含量计算:

$$\text{WSP 含量(mg /g 干重)} = (C \text{ 标准} \times V1) \times (A4 - A3) \div (A2 - A1) \div (W \times V1 \div V2) \times \text{稀释倍数}$$

$$= 0.05 \times (A4 - A3) \div (A2 - A1) \div W \times \text{稀释倍数}$$

C 标准: 标准管浓度, 0.05mg/ml; V1: 加入样本体积, 0.05ml; V2: 加入提取液体积, 1ml; W: 样本干重, g。

